

基于“辨色论质”的百合制桔梗质量控制研究

郭静英¹, 易海燕¹, 郑郁清¹, 谢亚婷¹, 郑 鹏¹, 黄 敏¹, 杨 明^{1,2}, 湛瑞林^{1,3}, 何 浪³, 张金莲^{1*}

1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004

2. 江西中医药大学药学院 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

3. 江西江中中药饮片有限公司, 江西 九江 332300

摘要: 目的 探究百合制桔梗“辨色论质”的实质, 形成百合制桔梗科学的质量评价方法, 并为其在线质量控制提供理论依据。方法 采用精密色差仪对桔梗和百合制桔梗的色度值进行测定, 运用 UPLC-ELSD 建立桔梗和百合制桔梗指纹图谱, 通过 SPSS 21.0 和 Origin Pro 2021 软件分析其色度值与共有峰之间的相关性, 根据相关程度筛选色度相关峰并进行指认。运用软件 MATLAB R2016a 筛选隐含节点数, 建立最优的“成分-色度”人工神经网络模型。结果 百合制桔梗共有 12 个共有峰, 指认出 6 个色度相关成分, 分别为王百合苷 A (峰 1)、王百合苷 F (峰 2)、王百合苷 B (峰 3)、桔梗皂苷 E (峰 5)、党参炔苷 (峰 6)、桔梗皂苷 D (峰 10)。桔梗皂苷 E 与色度值 a^* 、 b^* 呈正相关, 王百合苷 A、王百合苷 F、王百合苷 B 等化学成分均与色度值呈负相关。通过隐含节点数筛选, 发现隐含节点数为 8 时模型整体拟合程度最高, 人工神经网络模型的均方根误差 (root mean square error, RMSE) 较小, R^2 最高 (RMSE=0.251 3, $R^2_{all}=0.926 2$), 因此选择 4-8-7 作为模型最佳拓扑结构, 经验证表明该模型预测结果良好。结论 证实百合制桔梗“辨色论质”的科学合理性, 可将色度指标纳入百合制桔梗饮片质量评价体系中, 为百合制桔梗的在线质量控制提供思路。

关键词: 百合制桔梗; 辨色论质; 在线质量控制; 指纹图谱; 人工神经网络模型; 王百合苷; 桔梗皂苷; 党参炔苷; 色度

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2023)01-0072-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.01.010

Study on quality control of *Lilii Bulbus*-processed *Platycodonis Radix* based on “color discrimination grading”

GUO Jing-ying¹, YI Hai-yan¹, ZHENG Yu-qing¹, XIE Ya-ting¹, ZHENG Peng¹, HUANG Min¹, YANG Ming^{1,2}, CHEN Rui-lin^{1,3}, HE Lang³, ZHANG Jin-lian¹

1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, College of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

3. Jiangxi Jiangzhong Traditional Chinese Medicine Pieces Co., Ltd., Jiujiang 332300, China

Abstract: **Objective** To explore the essence of “color discrimination grading” of *Lilii Bulbus*-processed *Platycodonis Radix* (LB-pPR), form a scientific quality evaluation method of LB-pPR, and provide a theoretical basis for its online quality control. **Methods** The chromaticity values of *Platycodonis Radix* (Jiegeng, PR) and LB-pPR were measured by precision color difference instrument, and the fingerprints of PR and LB-pPR were established by UPLC-ELSD. The correlation between the chromaticity values and common peaks was analyzed by SPSS 21.0 and Origin Pro 2021 software, and the chromaticity correlation peaks were screened and identified according to the correlation degree. The software MATLAB R2016a was used to screen the number of hidden nodes, and the optimal “component-chromaticity” artificial neural network model was established. **Results** There were 12 common peaks in LB-pPR. Six color related components were identified, which were regaloside A (peak 1), regaloside F (peak 2), regaloside B (peak 3), platycodin E (peak 5), lobetyolin (peak 6) and platycodin D (peak 10). Platycodin E was positively correlated with chromaticity values a^* , b^* , and chemical components such as regaloside A, regaloside F, regaloside B were negatively correlated with

收稿日期: 2022-06-20

基金项目: 国家重点研发计划专项课题 (2018YFC1707206); 国家自然科学基金项目 (82060724); 省重点研发计划项目 (20192BBG70073); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202110412015); 校级创新团队项目 (CXTD22003)

作者简介: 郭静英, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制。E-mail: guojingying@163.com

***通信作者:** 张金莲, 教授, 博士生导师, 主要从事中药学及中药炮制学教学研究。Tel: (0791)87118995 E-mail: jxjzjl@163.com

chromaticity values. Through the screening of the number of hidden nodes, it was found that when the number of hidden nodes was 8, the overall fitting degree of the model was the highest, the root mean square error (RMSE) of the artificial neural network model was small, and the R^2 was the highest (RMSE = 0.251 3, R^2_{all} = 0.926 2). Therefore, 4-8-7 was selected as the best topology of the model, and experience showed that the prediction result of the model was good. **Conclusion** This study confirmed the scientific rationality of “color discrimination grading” of LB-pPR. The chromaticity index can be included in the quality evaluation system of LB-pPR, which provides ideas for the online quality control of LB-pPR.

Key words: *Lilii Bulbus*-processed *Platycodonis Radix*; color discrimination grading; online quality control; fingerprint; artificial neural network model; regaloside; platycodin; lobetyolin; chromaticity

桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 始载于《神农本草经》，是常用的化痰止咳平喘类药物。桔梗作为桔梗科植物桔梗的干燥根，味苦、辛，性平，归肺经，具有宣肺利咽、祛痰排脓之效，中医临床常用于治疗咳嗽痰多、胸闷不畅、咽痛音哑、肺痈吐脓等病症^[1]。现代研究表明桔梗中含多种化学成分，其有效化学成分包含桔梗皂苷类、黄酮类、多糖类、聚炔类等^[2-4]，具有祛痰、镇咳、抗炎、抗肿瘤等多方面的生物活性^[5-8]。桔梗炮制历史悠久，历代本草中关于桔梗炮制的记载颇丰，有净制、切制、炒制、醋炙、百合制、酒炙、蜜炙、米泔水制、蒸制等^[9]。其中百合制桔梗的炮制方法最先详细记载于雷敩的《雷公炮炙论》^[10]“凡使，去头上尖硬二、三分已来，并两畔附枝子，于槐砧上细锉，用百合水浸一伏时，漉出，缓火熬令干用。每修事四两，用生百合五分，捣作膏，投于水中浸。”明代《本草乘雅半偈》^[11]记载百合制桔梗“以筑梗基”，经百合汁润制炒炙可更好协同桔梗发挥疗效，经研究证实桔梗经百合汁润制炒炙后确实可以增强其化痰止咳的功效。同时，百合制桔梗也仍是目前常用的临方炮制品，在很多“宣肺祛痰”的方剂中将桔梗与百合配伍使用，如桔梗汤、桔梗杏仁煎、桔梗和中汤等。课题组前期依据文献记载，细化炮制参数，研究最佳工艺，发现桔梗经炮制后饮片颜色由黄白色变为棕色至深棕色，粉末颜色也可明显区分。同时其化学成分也发生了质变和量变，增加酚酸类成分王百合苷 A、王百合苷 F 和王百合苷 B，桔梗中桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 G₁、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃ 等多个成分的含量也增加。颜色作为中药质量评价必不可少的“性状”指标之一，与中药内在质量有着密切关联。“辨色论质”理论具有悠久的历史，从历代医药古籍中的辨色论质经验到现行药典性状项下颜色规定，都反映着药材颜色与质量的渊源^[12-13]。因此本研究结合中药“辨色论质”理论，以外在色度结合内在化学成分为研究依据，形成百

合制桔梗科学的质量评价方法，为其质量标准的研究奠定基础。

人工神经网络是人工智能的经典基础技术，具有强大的模式识别、数据运算和拟合、预测的能力，能够模拟处理复杂问题非线性复杂模型，因此在药学、食品、环境、农业等多个领域应用广泛^[14-18]。建立“色度-成分”的人工神经网络模型，可通过色度值预测有效成分含量，实现百合制桔梗的“辨色论质”，从而科学评价其整体质量。本研究以色度值结合指纹图谱共有峰峰面积进行相关，筛选并指认色度相关峰，针对性的建立色度与相关成分的人工神经网络模型。通过多元统计结合人工智能技术可全面反映百合制桔梗炮制前后的外在色度与内在化学成分的具体关联，探索其“辨色论质”的实质，并为百合制桔梗的在线质量控制提供参考依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

CYJ-900 型电磁炒药机，杭州金竺机械有限公司；Waters UPLC 型超高效液相色谱仪，美国 Waters 公司；KQ-500E 型超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；F-111B (100 g) 型二两装高速中药粉碎机，瑞安市永历制药机械有限公司；CT6JC 型夹层锅，温州市雄风轻工机械厂；SQP 型电子天平，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司；OHAUS 型万分之一分析天平，奥豪斯国际贸易（上海）有限公司；SHZ-D (III) 型循环水式真空泵，巩义市予华仪器有限责任公司；TGL-16B 型高速离心机，上海安亭科学仪器厂；RE-52 型旋转蒸发器，上海亚荣生化仪器厂。

1.2 药材

桔梗药材、百合饮片（批号 20211207，湖南邵阳）均购自江中中药饮片有限公司，经江西中医药大学中药资源教研室刘勇教授鉴定，分别为桔梗科桔梗属植物桔梗 *P. grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的干燥根和百合科百合属植物百合 *Lilium brownii* F. E.

Brown var. *viridulum* Baker 的干燥肉质鳞叶, 经检测均符合《中国药典》2020 年版桔梗、百合项下的标准。桔梗及百合制桔梗具体信息见表 1 和图 1。

表 1 桔梗和百合制桔梗的样品信息

Table 1 Sample information of PR and its processed products LB-pPR

桔梗编号	产地	批号	百合制桔梗编号	批号
S1	陕西西安	20211001	Z1	20211001-1
S2	陕西西安	20211002	Z2	20211002-1
S3	陕西西安	20211003	Z3	20211003-1
S4	陕西西安	20211004	Z4	20211004-1
S5	陕西西安	20211005	Z5	20211005-1
S6	安徽亳州	20211113	Z6	20211113-1
S7	安徽亳州	20211114	Z7	20211114-1
S8	安徽亳州	20211115	Z8	20211115-1
S9	安徽亳州	20211116	Z9	20211116-1
S10	安徽亳州	20211117	Z10	20211117-1
S11	河南嵩县	20211201	Z11	20211201-1
S12	河南嵩县	20211202	Z12	20211202-1
S13	河南嵩县	20211203	Z13	20211203-1
S14	河南嵩县	20211204	Z14	20211204-1
S15	河南嵩县	20211205	Z15	20211205-1

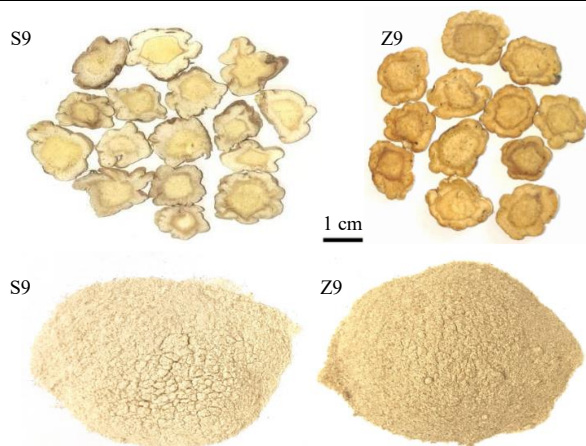


图 1 桔梗 (S9) 和百合制桔梗 (Z9) 饮片和粉末样品

Fig. 1 Pieces and powder samples of PR (S9) and LB-pPR (Z9)

1.3 试剂

对照品王百合苷 A (批号 wkq22012709, 质量分数 $\geq 98\%$)、王百合苷 F (批号 wkq22012806, 质量分数 $\geq 98\%$)、王百合苷 B (批号 wkq21082602, 质量分数 $\geq 98\%$)、桔梗皂苷 E (批号 wkq21082407, 质量分数 $\geq 98\%$)、购自四川省维克奇生物科技有限公司; 桔梗皂苷 D (批号 111851-201708, 质量分数 $\geq 98\%$)、党参炔苷 (批号 111732-201908, 质量

分数 $\geq 98\%$), 购自中国食品药品检定研究院。乙腈 (批号 57Y2009LF), 色谱纯, 水为屈臣氏蒸馏水, 其余常规试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品制备

2.1.1 桔梗 除去杂质, 洗净, 润透, 切厚片, 干燥, 粉碎后过三号筛, 即得^[1]。

2.1.2 百合制桔梗 ①取净百合, 加 5 倍量水煎煮 40 min, 浓缩至百合质量的 3 倍, 滤过, 得百合汁, 备用。②取相应批次桔梗饮片, 加入百合汁拌匀, 润制 3 h, 230 °C 炒 30 min 至表面呈黄色或者深黄色时, 取出, 晾凉^[10]。每 100 kg 桔梗用 40 kg 百合, 每 1 kg 百合得 3 kg 百合汁。本品形态与桔梗饮片相似, 呈椭圆形或不规则厚片。但颜色相较桔梗加深, 切面皮部黄色或深黄色, 较窄; 形成层环纹明显, 棕色; 木部宽, 有较多裂隙。气微, 味微甜后苦。粉碎后过三号筛, 即得。

2.2 色度值的测定

取适量桔梗及百合制桔梗粉末于器皿中, 高度约 2 mm, 压制平整, 采用精密色差仪平行测定 10 次, 计算各颜色参数的 RSD 均小于 2%, 说明仪器精密度良好; 记录样品颜色空间参数明度值 (L^*)、红绿色值 (a^*) 和黄蓝色值 (b^*), 并根据公式 $E_{ab}^* = (L^{*2} + a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ 计算样品的总色度值 E_{ab}^* , 结果见表 2。

2.3 色度主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘法-判别分析 (partial least square-discriminant analysis, OPLS-DA)

2.3.1 PCA 将桔梗和百合制桔梗的色度值导入 SIMCA 14.1 软件, 进行无监督的 PCA。由图 2 可知, 所有样品分布在 95% 置信区间内, 桔梗和百合制桔梗分别聚集在不同区域, 可明显的区分, 说明桔梗经炮制后, 其色度值发生明显的变化。

2.3.2 OPLS-DA 在 PCA 基础上, 进行有监督的 OPLS-DA 处理, 结果见图 3。模型解释率参数 R^2_X 和 R^2_Y 分别为 0.872 和 0.92; 模型预测能力参数 Q^2 为 0.906, 对模型的预测能力为 90.6%, 说明该模型稳定且预测能力良好。由图 4 聚类分析结果可知, 桔梗和百合制桔梗可明显区分开, 且同一产地的桔梗和百合制桔梗分布较其他产地更为紧密。

2.4 UPLC 指纹图谱研究

2.4.1 供试品溶液制备 精密称取本品粉末 (过三号筛) 约 2 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲

表 2 所有样品色度值 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Chromaticity values of all samples ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

编号	L^*	a^*	b^*	E_{ab}^*	编号	L^*	a^*	b^*	E_{ab}^*
S1	76.83±0.02	6.66±0.02	26.34±0.05	81.49±0.05	Z1	72.18±0.01	7.14±0.03	25.59±0.07	76.91±0.08
S2	76.10±0.01	6.78±0.02	27.13±0.05	81.07±0.05	Z2	70.92±0.01	7.50±0.03	26.77±0.05	76.18±0.06
S3	75.58±0.01	6.83±0.02	27.28±0.06	80.64±0.07	Z3	74.06±0.01	6.65±0.02	24.90±0.06	78.41±0.07
S4	76.86±0.01	6.65±0.02	26.39±0.07	81.54±0.07	Z4	72.19±0.01	7.46±0.03	26.74±0.06	77.35±0.06
S5	76.09±0.01	6.78±0.01	27.11±0.06	81.06±0.06	Z5	70.95±0.02	7.58±0.02	27.35±0.05	76.41±0.06
S6	75.60±0.01	7.40±0.03	28.89±0.67	81.27±0.67	Z6	70.01±0.02	9.38±0.02	29.15±0.07	76.41±0.08
S7	75.25±0.03	7.80±0.03	29.57±0.06	81.23±0.07	Z7	70.19±0.02	9.48±0.01	29.52±0.07	76.73±0.08
S8	74.23±0.02	8.23±0.02	30.85±0.04	80.81±0.05	Z8	69.75±0.02	10.52±0.01	31.44±0.07	77.23±0.07
S9	75.59±0.01	7.42±0.01	28.88±0.06	81.26±0.07	Z9	70.75±0.01	8.87±0.02	29.61±0.08	77.21±0.08
S10	74.23±0.01	8.25±0.01	30.61±0.06	80.72±0.06	Z10	70.00±0.01	9.45±0.01	29.21±0.06	76.44±0.06
S11	74.08±0.01	13.99±0.02	29.15±0.05	80.82±0.06	Z11	72.55±0.01	7.09±0.03	25.29±0.06	77.16±0.07
S12	74.08±0.01	7.33±0.02	28.95±0.05	79.88±0.05	Z12	73.23±0.01	6.60±0.03	24.99±0.05	77.66±0.06
S13	74.36±0.03	6.99±0.02	28.24±0.03	79.84±0.05	Z13	71.81±0.01	7.64±0.02	26.07±0.05	76.78±0.06
S14	74.08±0.01	7.37±0.02	29.09±0.07	79.93±0.07	Z14	74.64±0.02	6.36±0.03	24.88±0.05	78.93±0.06
S15	74.36±0.01	7.00±0.02	28.24±0.03	79.85±0.04	Z15	72.11±0.01	6.95±0.03	27.92±0.04	77.64±0.05

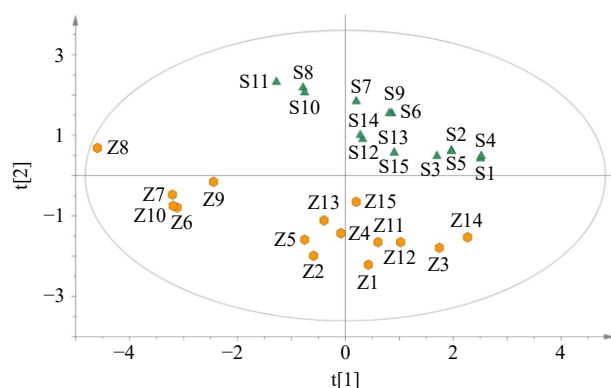


图 2 桔梗和百合制桔梗 PCA 散点图

Fig. 2 PCA scatter diagram of PR and LB-pPR

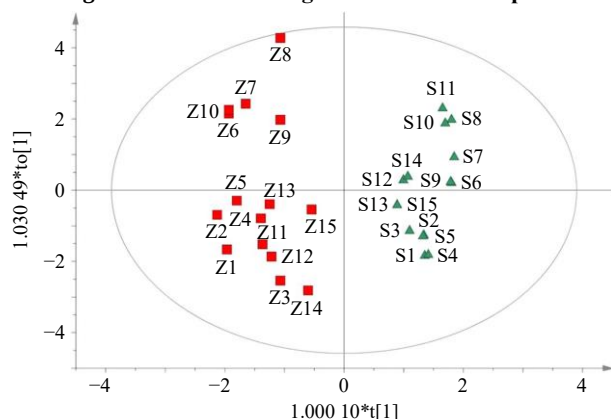


图 3 桔梗和百合制桔梗 OPLS-DA 散点图

Fig. 3 OPLS-DA scatter diagram of PR and LB-pPR

醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W、频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 50%甲

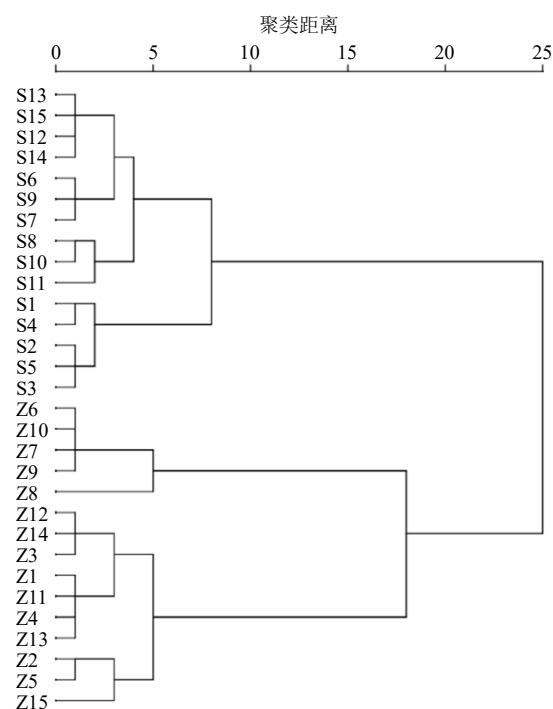


图 4 桔梗和百合制桔梗样品的聚类图

Fig. 4 Clustering diagram of PR and LB-pPR

醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过; 续滤液浓缩至 5 mL, 再 14 000 r/min 离心 (离心半径 3 cm) 15 min, 取上清液过 0.22 μ m 微孔滤膜, 备用。

2.4.2 色谱条件 色谱柱为 Waters Acquity UPLC BEH C_{18} 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m); 流动相为乙腈-0.05%甲酸水溶液, 梯度洗脱, 洗脱程序: 0~

8.0 min, 10.0%~20.0%乙腈; 8.0~16.5 min, 20.0%~22.0%乙腈; 16.5~20.0 min, 22.0%~23.5%乙腈; 20.0~22.3 min, 23.5%~24.0%乙腈; 22.3~23.0 min, 24.0%~24.3%乙腈; 23.0~23.5 min, 24.3%~24.6%乙腈; 23.5~30.0 min, 24.6%~27.0%乙腈; 体积流量 0.12 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 2 μ L。

2.4.3 精密度试验 取百合制桔梗(Z1)样品适量, 按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.4.2”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图。以桔梗皂苷 E 色谱峰(5 号峰)为参照峰(s), 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示, 各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.20%~0.31%, 相对峰面积的 RSD 为 0.96%~3.67%, 表明所用仪器精密度良好。

2.4.4 稳定性试验 取百合制桔梗(Z1)样品适量, 按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液, 分别于放置 0、2、4、8、12、24 h 按“2.4.2”项下色谱条件进样测定。以桔梗皂苷 E 色谱峰(5 号峰)为参照峰

(s), 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.05%~0.50%, 相对峰面积的 RSD 为 1.07%~2.45%, 表明供试品溶液于室温下放置 24 h 内稳定性良好。

2.4.5 重复性试验 取百合制桔梗(Z1)样品适量, 按“2.4.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.4.2”项下色谱条件进样测定。以桔梗皂苷 E 色谱峰(5 号峰)为参照峰(s), 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示, 各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.14%~0.78%, 相对峰面积的 RSD 为 1.73%~4.58%。

2.4.6 指纹图谱建立及相似度评价 取各批次桔梗、百合制桔梗药粉, 按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.4.2”项下色谱方法进样, 将色谱图数据依次导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》, 以样品 S1(或 Z1)图谱为参照指纹图谱(R), 用中位数法生成对照指纹图谱, 采用多点校正后进行自动匹配, 结果见图 5。

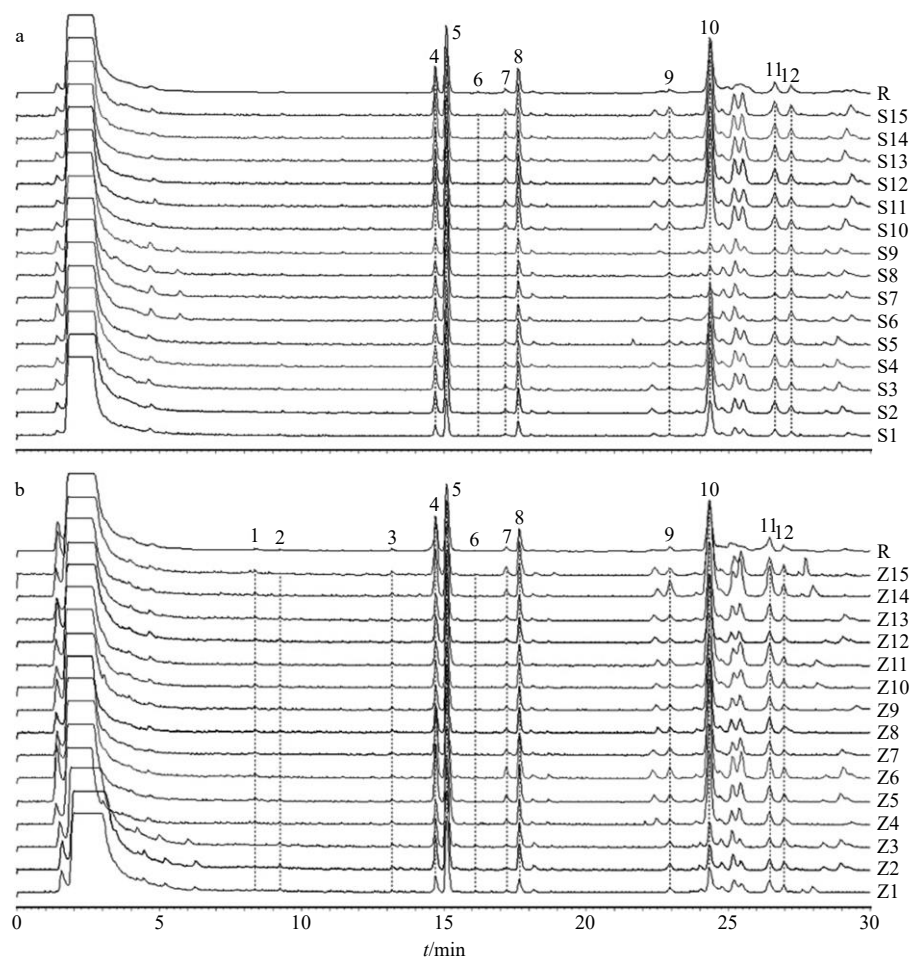


图 5 桔梗 (a) 与百合制桔梗 (b) 的指纹图谱

Fig. 5 Fingerprints of PR (a) and LB-pPR (b)

对样品 UPLC 色谱图与对照指纹图谱进行相似度评价, 结果所有样品与对照指纹图谱的相似度为 0.800~0.996, 结果见表 3、4, 表明不同产地样品化学成分组成差异较小。

表 3 桔梗指纹图谱相似度

Table 3 Similarity of fingerprints of PR

编号	相似度		编号	相似度		编号	相似度	
	15 批	30 批		15 批	30 批		15 批	30 批
S1	0.991	0.990	S6	0.824	0.825	S11	0.989	0.989
S2	0.985	0.984	S7	0.834	0.835	S12	0.980	0.979
S3	0.994	0.993	S8	0.809	0.809	S13	0.981	0.980
S4	0.996	0.996	S9	0.899	0.800	S14	0.975	0.974
S5	0.995	0.994	S10	0.981	0.981	S15	0.983	0.983

表 4 百合制桔梗指纹图谱相似度

Table 4 Similarity of fingerprints of LB-pPR

编号	相似度		编号	相似度		编号	相似度	
	15 批	30 批		15 批	30 批		15 批	30 批
Z1	0.891	0.907	Z6	0.992	0.995	Z11	0.985	0.972
Z2	0.888	0.903	Z7	0.983	0.991	Z12	0.993	0.980
Z3	0.881	0.916	Z8	0.998	0.986	Z13	0.982	0.990
Z4	0.997	0.896	Z9	0.973	0.980	Z14	0.985	0.978
Z5	0.995	0.957	Z10	0.995	0.995	Z15	0.983	0.979

2.5 指纹图谱共有峰与色度相关性分析

运用 SPSS 20.0 软件, 对百合制桔梗色度与化学成分之间进行相关性分析, 相关性数据见表 5。将两者 12 个共有成分的峰面积和相关色度值参数 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 数据, 输入到 Origin Pro 2021 软件并绘制可视化热图。结果见表 5 和图 6, 其中峰 1、2、3、5、6、10、11 和色度值有显著相关, 除峰 5 与 a^* 和 b^* 呈正相关外, 其余色度相关峰均与色度指标呈现不同程度的负相关。

2.6 色度相关峰指认

按“2.4.2”项下色谱条件, 分别对混合对照品溶液和供试品溶液进样分析。通过将混合对照品溶液和供试品溶液 UPLC 图进行比对, 指认出 6 个色度相关峰, 分别为峰 1 (王百合苷 A)、峰 2 (王百合苷 F)、峰 3 (王百合苷 B)、峰 5 (桔梗皂苷 E)、峰 6 (党参炔苷)、峰 10 (桔梗皂苷 D)。百合、桔梗、百合制桔梗和对照品色谱图见图 7。

结合色度与化学成分相关结果进行分析。其中, L^* 值和 b^* 值与王百合苷 A、王百合苷 F 和王百合苷 B 呈负相关趋势, 即桔梗炮制后, L^* 值减小, 亮度

表 5 色度与共有峰峰面积相关性分析

Table 5 Correlation analysis between chromaticity and common peak area

峰号	L^*		a^*		b^*		E_{ab}^*	
	相关系数	P	相关系数	P	相关系数	P	相关系数	P
1	-0.630**	0.000	0.017	0.928	-0.381**	0.038	-0.772**	0.000
2	-0.371**	0.000	-0.176	0.353	-0.559**	0.001	-0.583**	0.001
3	-0.683**	0.000	0.088	0.644	-0.278	0.137	-0.788**	0.000
4	-0.031	0.870	0.269	0.015	0.189	0.317	0.055	0.771
5	-0.297	0.111	0.445*	0.014	0.741**	0.000	-0.023	0.904
6	-0.151	0.425	-0.235	0.210	-0.436*	0.016	-0.321	0.083
7	0.011	0.954	0.313	0.092	0.174	0.357	0.100	0.600
8	-0.304	0.103	0.217	0.249	0.168	0.375	-0.239	0.204
9	-0.345	0.062	0.041	0.830	0.020	0.915	-0.345	0.062
10	0.027	0.888	-0.289	0.121	-0.710**	0.000	-0.233	0.216
11	-0.335	0.070	-0.047	0.804	-0.207	0.271	-0.423*	0.020
12	-0.150	0.428	0.166	0.382	0.250	0.182	-0.060	0.752

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

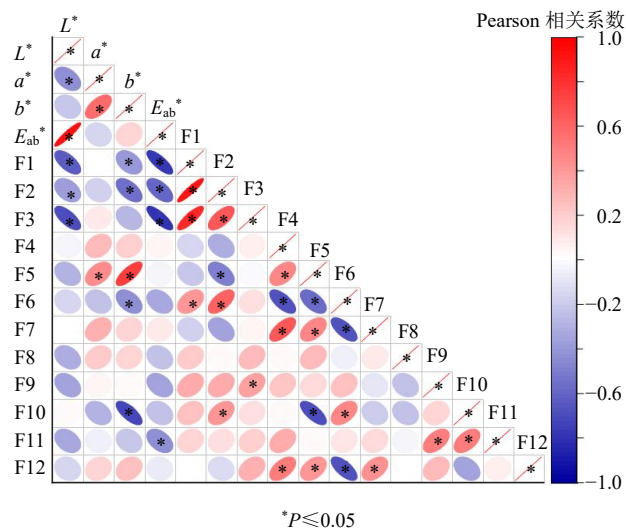


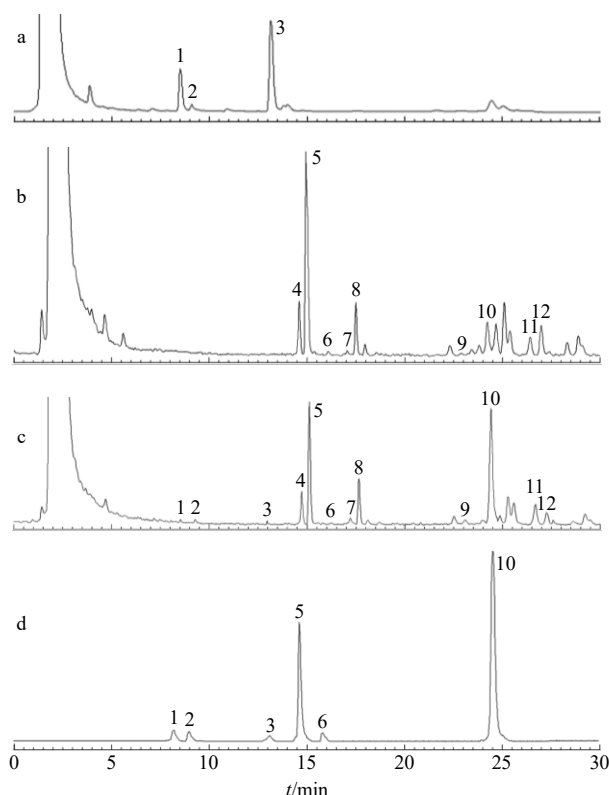
图 6 桔梗和百合制桔梗色度值与化学成分的 Pearson 相关系数热分析

Fig. 6 Heat map of Person correlation coefficient between chromaticity values and chemical compositions of PR and LB-pPR

减弱颜色加深, 这 3 种成分含量增加, a^* 与桔梗皂苷 E 正相关。总色度值 E_{ab}^* 与多个成分呈现负相关, 各个产地桔梗的总色度值均高于相应批次百合制桔梗的总色度值, 总色度值的下降伴随着多个化学成分含量的增长。

2.7 人工神经网络模型建模

运用软件 MATLAB R2016a 建立“色度-成分”模型。以色度指标 L^* 、 a^* 、 b^* 和 E_{ab}^* 为输入层, 色



1-王百合苷 A 2-王百合苷 F 3-王百合苷 B 5-桔梗皂苷 E 6-党参炔苷 10-桔梗皂苷 D
1-regaloside A 2-regaloside F 3-regaloside B 5-platycodin E 6-lobetyolin 10-platycodin D

图 7 百合样品 (a)、桔梗样品 (b)、百合制桔梗样品 (c) 和混合对照品 (d) 的 UPLC 图

Fig. 7 UPLC diagram of LB sample (a), PR sample (b), LB-pPR (c) and mixed control sample (d)

度相关峰峰面积为输出层。其中输入层与隐含层之间采用非线性传输函数,输出层采用线性传递函数。

2.7.1 数据归一化处理 为避免不同数据量级不一致增加神经网络建模的难度,因此,需要对数据进行归一化处理后才可进行建模^[19]。采用软件 MATLAB R2016a 对色度值及相关峰面积数据进行归一化处理。

2.7.2 隐含层节点数筛选 隐含层节点的数量是影响神经网络模型性能的重要因素,常作为考察最优模型的指标之一,隐含节点数过多或过少都会对模型的准确度造成影响。因此需要根据建模对象对隐含层节点数进行筛选。隐含层节点数的经典计算公式为 $L=(m+n)^{1/2}+a$,其中 L 为隐含层节点数, n 为输入层节点数 4, m 为输出层节点数 7, a 为 0~10 的自然数^[20]。基于此公式该模型的隐含层节点数在 3~14,以 R^2 和 RMSE 值为考察指标进行筛选,如表 6 所示。结果表明,当隐含层节点数为 8 和 12

表 6 隐含节点数筛选结果

Table 6 Screening results of hidden nodes

隐含节点数	R^2_{all}	$R^2_{training}$	$R^2_{validation}$	$R^2_{testing}$	RMSE
3	0.915 5	0.925 1	0.954 5	0.695 2	0.265 1
4	0.906 7	0.889 5	0.934 3	0.862 4	0.279 4
5	0.864 6	0.829 6	0.995 7	0.740 4	0.330 7
6	0.879 7	0.879 2	0.804 3	0.786 6	0.317 6
7	0.865 7	0.844 2	0.986 1	0.888 8	0.350 7
8	0.926 2	0.916 1	0.979 3	0.817 8	0.251 3
9	0.897 7	0.879 9	0.986 1	0.774 6	0.303 9
10	0.891 6	0.884 6	0.973 8	0.751 5	0.297 9
11	0.897 9	0.891 8	0.884 9	0.755 8	0.301 3
12	0.927 3	0.912 8	0.980 3	0.852 8	0.248 8
13	0.877 7	0.857 2	0.993 7	0.782 4	0.310 7
14	0.826 9	0.776 4	0.811 1	0.884 0	0.365 2

时, RMSE 最小分别为 0.251 3 和 0.248 8, $R^2_{training}$ 、 $R^2_{validation}$ 、 $R^2_{testing}$ 、 R^2_{all} 较高。

2.7.3 人工神经网络模型建模 以隐含节点数 8 和 12 分别建立“色度-成分”的人工神经网络模型,数据的训练、预测及测试比例分别为 70%、15%、15%。以 L^* 、 a^* 、 b^* 和 E_{ab}^* 为输入层, 7 个色度相关峰峰面积为输出层, 采用 Tansig 传递函数和 Levenberg-Marquardt 训练算法建立人工神经网络模型。训练、验证和测试过程中的试验值与预测值的比较见图 8。结果表明, 隐含节点数为 8 时, 整体拟合度较 4-12-7 模型的拟合度好, 且测试集更为集中。RMSE 为 0.2513、 $R^2_{training}$ 、 $R^2_{validation}$ 、 $R^2_{testing}$ 分别为 0.926 2、0.916 1、0.979 3、0.817 8, 说明模型具有良好的拟合度和较小的误差值, 可通过该模型反映和预测百合制桔梗炮制前后色度值发生改变的同时相关化学成分含量的变化趋势。

2.7.4 人工神经网络模型验证 取未经训练的 3 批百合制桔梗色度值, 利用人工神经网络模型对其峰面积进行预测, 计算实际试验值与预测值的相对误差。结果显示, 试验值与预测值的相对误差值为 0.02~0.15, 表明模型整体预测能力良好。

3 讨论

中药辨色论质理论是以象思维、五行学说、药性理论等为基础, 以现代化学成分研究为依据, 历经多年总结形成的一种中药质量评价经验^[13]。老药工就常以外观的颜色来判定中药材质量的优劣以及中药炮制程度是否“适中”, 历版《中国药典》和炮制规范项下都对饮片颜色有要求, 例如“桔梗切面

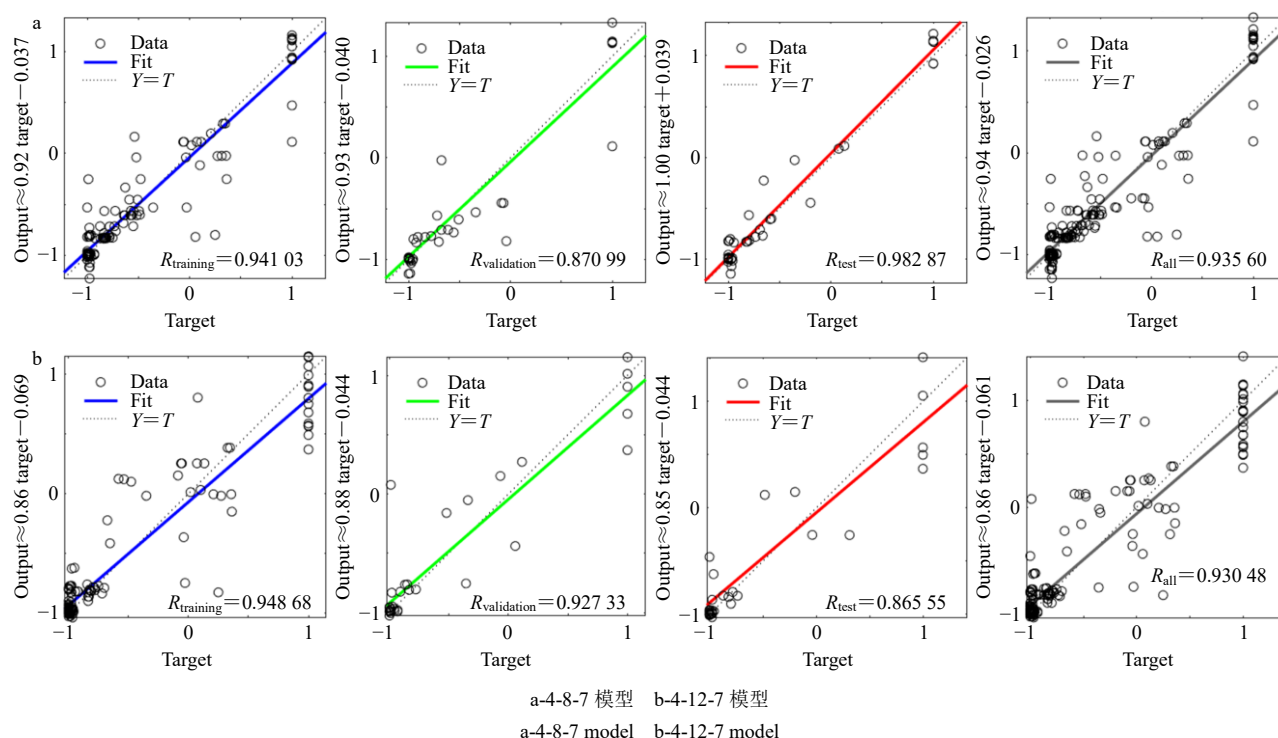


图 8 训练、验证和测试过程中的试验值与预测值的比较

Fig. 8 Comparison of test and predicted values during training, verification and testing

皮部黄白色，形成层棕色”^[1]。但作为感官评测，仅凭人为观察饮片外观颜色来掌握炮制程度，难以有效保障饮片质量^[21]。

目前，随着色差技术的不断发展，该技术很大程度上避免了以肉眼观色的主观性，色度指标也可从多方面敏感捕捉到炮制前后的颜色变化，因此该技术目前已广泛的应用于在中药领域。色度值 L^* （明亮度）、 a^* （红绿值）、 b^* （黄蓝色）是药材品质评价的一种准确而又简单易行的指标，能够对颜色进行客观表达^[22-23]。本研究通过测量 3 个产地各 15 个批次桔梗和百合制桔梗粉末的色度值，桔梗饮片黄白色对应粉末的色度值范围为 $L^* 75.15 \pm 1.02$ 、 $a^* 7.69 \pm 1.82$ 、 $b^* 28.45 \pm 1.39$ ，而百合制桔梗相较于桔梗颜色加深饮片颜色为黄色至深黄色， L^* 和 b^* 下降， a^* 值上升，分别为 $L^* 71.69 \pm 1.51$ 、 $a^* 7.91 \pm 1.29$ 、 $b^* 27.29 \pm 2.08$ ，并且对两者色度值进行化学计量相关分析发现，两者色度分布在不同的范围，可以明显的区分开，说明色度值可以作为区分桔梗与百合制桔梗的外在指标之一。

本研究通过分析百合制桔梗的共有峰峰面积与色度值，筛选出色度相关峰，说明其色度与化学成分之间存在密切关联。其中 L^* 值与多个成分呈负相关， L^* 值减小，亮度减弱，含量增加。表明在炮制

过程中可以重点注意饮片明亮度来把握炮制程度。百合制桔梗色度值与王百合苷 A、王百合苷 F、王百合苷 B、桔梗皂苷 D 等多个成分相关。课题组前期研究发现王百合苷 A 能够协同百合制桔梗发挥祛痰止咳疗效，桔梗皂苷 D 对胃癌、人白血病、乳腺癌、肝癌、肺癌等多种肿瘤细胞均有良好的抗肿瘤活性^[24-25]。仅用单一成分难以全面判断饮片质量。人工神经网络模型具有分析非线性复杂相关关系的优势，可以在多个输入层和输出层之间建立联系，因此将 L^* 、 a^* 、 b^* 和 E_{ab} 值与多个化学成分同时建立人工神经网络模型，可更好通过饮片色泽反映饮片整体质量。

《本草蒙筌》^[26]指出“凡药制造，贵在适中。不及则功效难求，太过则气味反失”，可见炮制程度是影响中药质量的重要因素。在实际生产中可以通过实时监测饮片颜色变化，利用该模型预测百合制桔梗王百合苷 A、桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 G₁ 等多个活性成分的含量，掌握炮制程度，以实现百合制桔梗的在线生产质量控制。目前中药设备的现代化与信息化程度亟需改进与提高，饮片加工设备的智能化也已成必然趋势^[27]。在实际生产过程中实现在线质量控制的关键之一在于色度值的采集，可以通过设备的改进来解决这一重要问题，后期设备研发可

利用电子眼、色度传感器^[28-29]、采用已上市防烟雾、防高温的高清摄像头建立灵敏度高的色度捕捉装置。将色度引入控制单元,实时反馈炮制过程中饮片颜色,通过饮片色度结合人工神经网络模型预测成分含量,以此判断炮制终点,更好的实现饮片加工中快速、相对准确的在线控制,将“辨色论质”科学的应用于炮制前后颜色变化显著的多种饮片实际生产和质量控制中。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 183.
- [2] 谢雄雄, 张迟, 曾金祥, 等. 中药桔梗的化学成分和药理活性研究进展 [J]. 中医药通报, 2018, 17(5): 66-72.
- [3] 邓亚玲, 任洪民, 叶先文, 等. 桔梗的炮制历史沿革、化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(2): 190-202.
- [4] 许伟辰, 罗子宸, 谢彤, 等. 中药桔梗研究进展及其质量标志物预测初步分析 [J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(2): 294-302.
- [5] 孙强, 蒙艳丽, 吴秉纯, 等. 桔梗化学成分及药理作用的研究概况 [J]. 黑龙江中医药, 2017, 46(4): 64-65.
- [6] Zhang Z Y, Zhao M C, Zheng W X, et al. Platycodin D, a triterpenoid saponin from *Platycodon grandiflorum*, suppresses the growth and invasion of human oral squamous cell carcinoma cells via the NF- κ B pathway [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2017, 31(9): 1-7.
- [7] 谢雄雄, 张迟, 曾金祥, 等. 桔梗提取物部位群镇咳祛痰活性与桔梗皂苷成分研究 [J]. 中国新药杂志, 2019, 28(13): 1647-1653.
- [8] Li W, Yang H J. Phenolic constituents from *Platycodon grandiflorum* root and their anti-inflammatory activity [J]. *Molecules*, 2021, 26(15): 4530.
- [9] 张大永, 范文翔, 吴纯洁, 等. 桔梗炮制的历史沿革及现代研究进展 [J]. 中药与临床, 2018, 9(4): 46-50.
- [10] 南北朝刘宋·雷敫著. 雷公炮炙论 [M]. 王兴法辑校. 北京: 人民卫生出版社影印, 1957: 249.
- [11] 明·卢之颐. 本草乘雅半偈 [M]. 周世泰点校. 上海: 上海人民出版社, 2005: 400.
- [12] 徐曼菲, 吴志生, 刘晓娜, 等. 从辨色论质谈中药质量评价方法 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(2): 177-181.
- [13] 刘倩倩, 王升菊, 任超翔, 等. 中药辨色论质理论与方法的传承创新 [J]. 中草药, 2021, 52(10): 3121-3132.
- [14] 姜鹏飞, 吴吉玲, 黄一珍, 等. 基于人工神经网络的大西洋鲑鱼烘烤过程中水分和色度值预测模型 [J]. 食品研究与开发, 2021, 42(7): 13-19.
- [15] 单琪媛, 陈渊成, 曹岗, 等. 人工神经网络在药动学和药效学研究中的应用新进展 [J]. 中国药理学杂志, 2012, 47(17): 1345-1349.
- [16] 严亚萍, 王刚, 姜盛基, 等. 人工神经网络在环境领域中的研究进展 [J]. 应用化工, 2022, 51(1): 170-176.
- [17] 潘海博, 覃璐琪, 黄燕婷, 等. 人工神经网络结合遗传算法优化保护剂提高罗伊氏乳杆菌抗冻性能 [J]. 食品科学, 2021, 42(14): 70-77.
- [18] 张驰, 郭媛, 黎明. 人工神经网络模型发展及应用综述 [J]. 计算机工程与应用, 2021, 57(11): 57-69.
- [19] 马磊, 王佳辉, 郝宣润, 等. 基于人工神经网络模型的黄芩提取物性状-成分与药效相关性研究 [J]. 中草药, 2020, 51(8): 2151-2161.
- [20] 甄臻, 王杨, 魏海峰, 等. 基于颜色变化的麸炒山药质量标准及炮制工艺探究 [J]. 中成药, 2021, 43(3): 816-819.
- [21] 王杨, 甄臻, 隆毅, 等. 基于颜色变化的酒白芍质量标准及炮制工艺研究 [J]. 中药材, 2020, 43(9): 2141-2145.
- [22] 黄梦婷, 潘玲, 邓李红, 等. 基于 UPLC 指纹图谱与色度值的桑白皮生品和炮制品的鉴别及炮制终点研究 [J]. 中国药房, 2021, 32(1): 56-63.
- [23] 张洪涛, 张静, 孟灵旭, 等. 金樱子盐炙工艺及其盐炙前后 HPLC 指纹图谱与色度值研究 [J]. 中国药房, 2022, 33(7): 861-866.
- [24] 徐洁, 李小兵, 赖盼建, 等. 桔梗皂苷 D 在体外对人肝癌细胞株 HepG2 的杀伤作用机制研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(16): 2754-2757.
- [25] 马琳琳, 何慧, 张世科, 等. 桔梗皂苷-D 诱导Hela细胞凋亡的作用及机制研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(22): 2429-2436.
- [26] 清·陈嘉谟撰. 本草蒙筌 [M]. 张印生, 韩学杰, 赵慧玲辑校. 北京: 中医古籍出版社, 2009: 13.
- [27] 杨立诚, 封亮, 贾晓斌. 协同融合信息技术的智能制药设备在中药产业升级中应用现状与展望 [J]. 世界中医药, 2020, 15(15): 2199-2204.
- [28] 陈鹏, 肖晓燕, 梅茜, 等. 基于仿生技术对薏苡仁麸炒过程中色泽气味变化研究 [J]. 中草药, 2022, 53(14): 4285-4297.
- [29] 于竞翔, 刘国宏, 任丽君, 等. 新型便携式RGB色度传感器定量检测水中路易氏剂 [J]. 分析化学, 2020, 48(7): 962-968.

[责任编辑 郑礼胜]